

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2003年9月12日(12.09.2003)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 03/074586 A1

- (51) 国际分类号⁷: C08G 69/00
- (21) 国际申请号: PCT/CN03/00164
- (22) 国际申请日: 2003年3月5日(05.03.2003)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
02106691.4 2002年3月5日(05.03.2002) CN
- (71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 北京健凯科技有限公司(BEIJING JIANKAI TECHNOLOGY CO., LTD) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地信息路2号国际科技创业园C栋四层, Beijing 100085 (CN)。
- (72) 发明人;及
- (75) 发明人/申请人(仅对美国): 嵇世山(JI, Shishan) [CN/CN]; 中国北京市清华大学毕业大厦1209房间, Beijing 100084 (CN)。朱德权(ZHU, Dequan) [CN/CN]; 中国北京市清华大学毕业大厦2611房间, Beijing 100084 (CN)。
- (74) 代理人: 永新专利商标代理有限公司北京办事处(NTD PATENT & TRADEMARK AGENCY LTD.,

BEIJING OFFICE); 中国北京市金融大街27号投资广场A座10层, Beijing 100032 (CN)。

- (81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW
- (84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

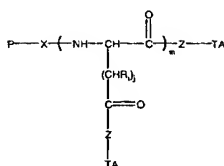
(54) Title: COMPOUND OF HYDROPHILIC POLYMER-POLYCARBOXYL OLIGOPEPTIDE AND MEDICINES, MEDICAL COMPOSITE COMPRISING ABOVE COMPOUND AND USE OF ABOVE COMPOUND IN MEDICINES

(54) 发明名称: 亲水性聚合物-多羧基寡肽与药物分子的结合物、包含该结合物的药物组合物以及该结合物的医药用途

(57) Abstract: The present invention relates to a kind of compound of hydrophilic polymer - polycarboxyl oligopeptide and medicines represented by following formula: (I) Wherein P is hydrophilic polymer; m is a intergral number of from 2 to 12; j is a intergral number of from 1 to 6; R<sb>i</sb> is a group selected from group consisting of: H, C<sb>1-12</sb> alkyl, substituted aryl, aralkyl heteroalkyl or substituted alkyl; X and Z is connective group; and TA is medicines molecule. The compound has no toxicity and can hold many medicines molecules, achieve increasing solubility, slow releasing, controlled releasing etc. objective, especially have obvious enrichment effect to antineoplastic medicines such as taxol, camptothecin etc.

(57) 摘要

本发明涉及一种以下式的亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物分子的结合物:



其中: P 是水性聚合物; m 是 2—12 的整数; j 为 1—6 的整数; R_i 为选自以下组中的基团: H、C₁₋₁₂ 烷基、取代芳基、芳烷基、杂烷基、和取代烷基; X、Z 是连接基团; 以及 TA 为药物分子。该结合物无毒, 而且可负载多个药物分子, 达到提高溶解性、缓释控释等目的, 尤其对抗肿瘤药物如紫杉醇、喜树碱等, 有明显强化作用。

WO 03/074586 A1

亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物分子的结合物、包含该结合物的药物组合物以及该结合物的医药用途

技术领域

本发明涉及一种新型的亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物分子的结合物、包含该结合物的药物组合物以及该结合物在制备药物中的用途。

背景技术

天然药物活性成分中的蛋白质、多肽、萜类、甾体、生物碱、黄酮、蒽醌、苯丙素酚类等都在生理活性上都表现出各种有效的性能，在医药中得到了广泛的应用。它们的甙类、核苷类、多肽类衍生物也有相当的应用。作为天然活性成分，它们具有生物降解快，基本无残留，毒副作用小等优点。但同时也有相应的问题存在，例如生物利用率低、生理半衰期短、水溶性差、引发机体免疫等不利之处。

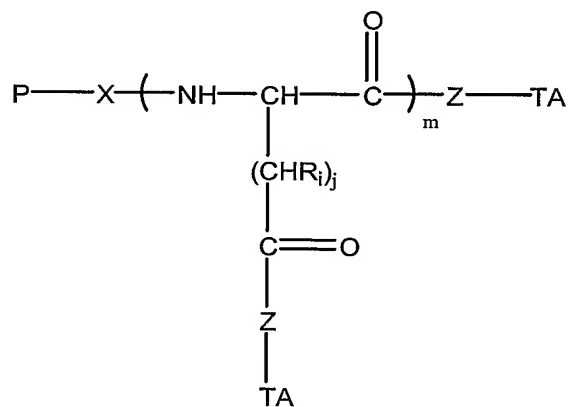
为解决此问题，已广泛地使用聚乙二醇衍生物，使其与蛋白质、肽或其他治疗药物的结合，以延长药物的生理半衰期、降低其免疫原性和毒性。在临床使用中，PEG 及其衍生物作为制作药物制剂的载体已经在很多商业药品中得到了广泛的应用，而将 PEG 键合到药物分子的尝试在最近十年里也得到了长足的发展，在许多批准药品中广泛被使用，如 PEG-intron[®]，一种 α -干扰素与聚乙二醇的键合物就表现出了更长的循环半衰期和更好的治疗效果。紫杉醇与聚乙二醇的键合物也相应的降低了毒性和延长了生物活性。它们在人体内的代谢过程已相当清楚，是一种安全的，无副作用的药物改性剂。

在与药物结合时，常用到一种被称为聚乙二醇（PEGylation）化的工艺，即聚乙二醇两端的一个或二个端基被化学活化后具有一适当的官能团，此官能团对要结合的药物中的至少一个官能团具有活性，能与之形成稳定的键，并可在体内适当的情况下被降解除去，而释放出活性成分。

有报道表明聚乙二醇可以用于和很多药物连接。第 5824701 和 5840900 号美国专利以及中国专利 CN1283643 报道了此类衍生物和紫杉醇键合的前药，在该药物模型中聚乙二醇两端都只键合了一个紫杉醇分子。为了提高对药物分子的负载率，第 6153655 号美国专利披露了一种链端分支聚乙二醇结构，该结构在聚乙二醇的两端通过氨基连接生成了两个功能基团。但是引进非生物的支链小分子引进了药物的不确定性。第 5977163 和 6262107 号美国专利以及中国专利 CN1164533 公开了一种聚谷氨酸支载的紫杉醇前药，此药物模型中紫杉醇沿聚谷氨酸骨架链随机的连接到谷氨酸的活性羧基上，较宽的聚合率分布以及对聚谷氨酸毒性的不可确知性限制了该发明的使用。

发明内容

因此，本发明的目的是提供一种以下式的亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物分子的结合物：



其中：

P 是水溶性聚合物；

m 是 2—12 的整数；

j 为 1—6 的整数；

R_i 为选自于以下组中的基团：H、C₁₋₁₂ 烷基、取代芳基、芳烷基、杂烷基、和取代烷基；

X 是连接基团；

Z 是连接基团：O 或者 NH；

TA 为药物分子。

根据本发明的另一个方面，其提供包含上述结合物作为活性成分的药物组合物。

根据本发明的再一个方面，其提供所述结合物在制备药物组合物中的用途。

根据本发明的结合物可改善药物吸收，延长作用时间，增强疗效，降低给药剂量及避免某些毒副作用。

附图说明

以下将参考附图对本发明进行更为详细的说明，在附图中：

图 1 是聚乙二醇谷氨酸寡肽衍生物的合成图；

图 2 是聚乙二醇谷氨酸寡肽衍生物与药物形成酯键类结合物的合成图；以及

图 3 是聚乙二醇谷氨酸寡肽衍生物与药物形成其他类结合物的合成图。

具体实施方式

在本发明的结合物中所用的亲水性聚合物例如是聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉或者它们的共聚物，其中特别优选是聚乙二醇及其共聚物。此等亲水性聚合物通过对游离端羟基的修饰，将酸性氨基酸寡肽、特别是谷氨酸寡肽结合到该聚合物的母体上，使该聚合物能够提供与药物分子的连接点，由此与蛋白质、多肽或者其他天然药物活性成分中的游离氨基、羟基等连接在一起。特别是对小分子的天然药物活性成分，可以在一个亲水性聚合物—多羧基寡肽中连接一个或更多药物分子，以保证适当的药物浓度和提供缓释功能。

在本发明结合物的结合物中，谷氨酸寡肽的多羧基基团提供了多个结合点，使得对药物分子的负载能力高于普通的线性 PEG 支载剂。与聚

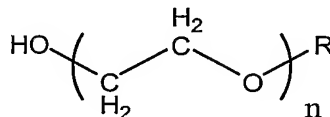
谷氨酸不同之处在于，谷氨酸寡肽在每条寡肽链中具有确定数目的活性羧基。因此，当结合药物如紫杉醇分子时，药物分子的负载率将很容易确认和重复。同时，由于诸如紫杉醇等药物本身的非亲水性，所形成的亲水性聚合物—谷氨酸寡肽—药物分子的结合物在水溶液中将形成以若干分子聚集组成分子团的微球结构。该结构保留了亲水性聚合物良好的亲水性、柔性、抗巨噬细胞吞噬性等优良特性，同时提供了对药物分子的缓释控释，可以极大的延长药物，尤其是天然药物分子，在体内的停留周期。

本发明的一个优点是除了保留有亲水性聚合物如聚乙二醇或其衍生物通常的溶解性、非免疫原性和无毒等特征外，寡肽基团将提供对药物分子的多个负载点，保证了药物分子的有效血药浓度和分步释放。

现在以聚乙二醇衍生物为例，说明本发明中亲水性聚合物与多羧基寡肽的连接。

聚乙二醇衍生物的结构中包括了聚合物支链部分和端基功能团部分，分别描述如下。

聚乙二醇（PEG），其结构通式如下所示：



其中：

R 为 H 或 C₁₋₁₂ 烷基，

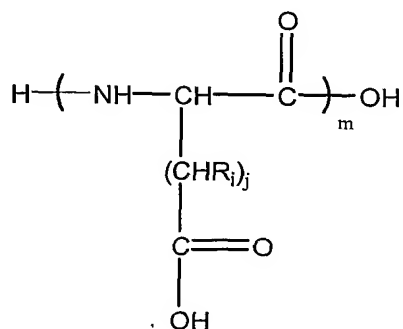
n 为任何整数，表征其聚合度。

当 R 为低级烷基时，R 可以是含有 1—6 个碳原子的任何低级烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正戊基或正己基。当 R 为环烷基时，R 优选为含 3—7 个碳原子的环烷基，如环丙基、环丁基和环己基。优选的环烷基为环己基。其典型的化合物是甲氧基聚乙二醇（mPEG）。其他聚乙二醇类似物或聚乙二醇共聚物也可用于此发明应用，如聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉等。

对聚乙二醇而言，一般采用分子量予以表示，只要使形成结合物的

聚乙二醇的分子量为 300~60000 道尔顿, 这相当于 n 为大约 6~1300。更优选的是, n 为 28、112 和 450, 这分别相应于分子量为 1325、5000 和 20000。由于通常由其平均分子量而非自重复单元限定的起始 PEG 化合物的潜在不均一性, 优选分子量表征聚乙二醇聚合物, 而不是用整数 n 表示 PEG 聚合物中的自重复单元。各种分子量的起始 PEG 化合物可以通过本领域中的已知方法制备或者可以从商业来源得到。

多羧基寡肽, 其结构通式如下所示:



其中:

m 为 2—12 的整数, 表征其聚合度。

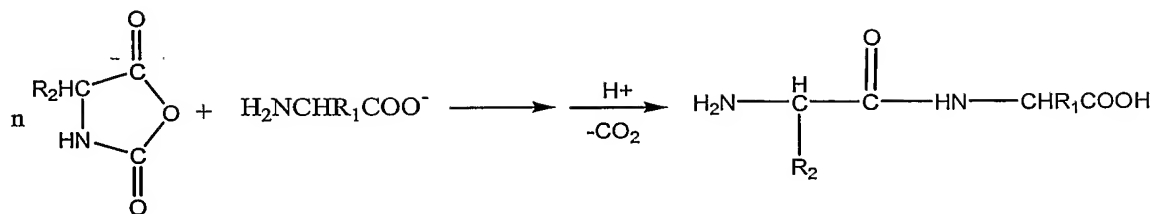
j 为 1—6 的整数; 以及

R_i 为选自于以下组中的基团: H、 C_{1-12} 烷基、取代芳基、芳烷基、杂烷基、和取代烷基。

当 R_i 为低级烷基时, R_i 可以是含有 1—12 个碳原子的任何低级烷基, 如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正戊基或正己基以及可能的环烷基等。当 R_i 为芳烷基时, R_i 优选为苄基、苯乙基等。优选的取代芳基为苄基。

寡肽合成可参照通用的合成办法, 使用保护氨基酸, 在脱水剂的作用下可得到很好产率的氨基酸聚合物。当然, 本发明中使用的寡肽为同多肽, 不存在有结构顺序问题, 因此可以采用更简便的办法制备, 如混合酸酐法、活化酯法、N-羧基内酸酐 (NCA) 法等。

以 N-羧基内酸酐 (NCA) 法为例:



该反应具有如下优点：反应速度快，合成周期短；合成结束后，得到的氨基游离的肽可以不用分离而直接用于第二轮的肽合成；侧链可以较少保护，除 NCA 的侧链需要保护以外，氨基组分只有赖氨酸和半胱氨酸必须保护。

多羧基寡肽化合物可以通过本领域中的已知方法制备或者可以从商业来源得到。

本发明为亲水性聚合物—谷氨酸寡肽部分是通过本领域技术人员已知的方法由亲水性聚合物和谷氨酸寡肽合成的。

在实际应用中，需要对亲水性聚合物的端基部分予以活化，以保证其能够和寡肽的氨基或者羧基发生反应而将二者结合。针对需要实现的用途，可以采用以下几种方法对端基官能团进行改性：

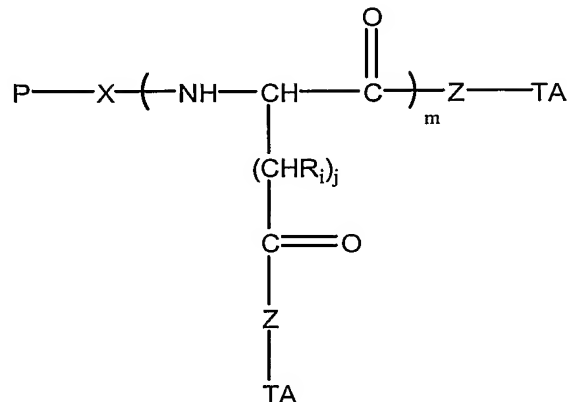
- a. 氨基化，氨基化后的亲水性聚合物，由反应活性较大的氨基取代了羟基，在与一个含羧酸基的分子进行反应形成键合物中尤其重要。
- b. 羧基化，亲水性聚合物羧基化后，可提高其反应性，使之可以和另一含氨基或羟基的分子反应形成键合物。
- c. 其他如酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物等改性方式也可适当采用。

这几种方法均可使亲水性聚合物和寡肽上的官能团以化学键的方式连接，以使二者的优良性能各自得到很好的发挥。

在目前使用许多药物、尤其是天然药物成分中都含有氨基、羧基、羟基等官能团，它们在生物体内通常都与单糖、多糖、核苷、多聚核苷、磷酸基等成分结合，以形成在生物体中有活性的药理结构。

因此，亲水性聚合物—多羧基寡肽可以通过相同的方式和这些药物

分子结合，以替代生物有机分子，并克服生物有机分子在生物体内生理半衰期短的，药效持续时间短的缺陷。本发明的亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物的结合物具有以下结构式：



其中：

P 是水溶性聚合物，其可以是聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉及它们的共聚物等，其中优选聚乙二醇或其共聚物；

m 是 2—12 的整数；

j 为 1—6 的整数；

R_i 为选自于以下组中的基团：H、C₁₋₁₂ 烷基、取代芳基、芳烷基、杂烷基、和取代烷基；

X 是连接基团，优选为(CH₂)_i、(CH₂)_iOCO、(CH₂)_iNHCO、(CH₂)_iCO 等，其中 i 是 1~10 的整数；

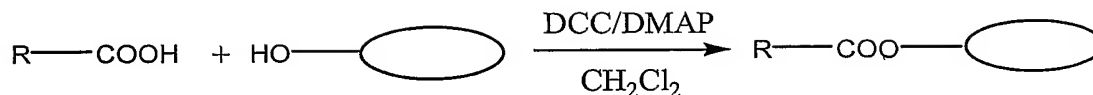
Z 是连接基团：O 或者 NH；

TA 为药物分子。

亲水性聚合物上如果有游离羟基，则该游离羟基可用 C₁₋₁₂ 烷氧基、环烷氧基或芳烷氧基封端，优选是甲氧基、乙氧基、异丙氧基、环丙氧基、环丁氧基、环己氧基以及苄氧基。

另外，在该亲水性聚合物上还可连接靶向分子，如抗体等，以便定向转运本发明的结合物。

亲水性聚合物—与药物分子可例如通过酯基合成反应而结合在一起，该过程可简单地如下所示：



酯基在生物体中可以通过生物降解的方式除去，而释放出活性成分。

在本发明的结合物中可使用合适的药物分子构成其中的药物部分，其包括氨基酸、蛋白质、酶、核苷、糖类、有机酸、甙类、黄酮类、醌类、萜类、苯丙素酚类、甾体及其甙类、生物碱等。

在本发明的结合物中，药物分子部分优选是由天然植物中分离的药物活性成分，如华蟾酥毒基、甘草次酸、和东莨菪内酯。该药物分子部分特别优选是用于治疗肿瘤的天然药物成分，例如紫杉醇、喜树碱、羟基喜树碱、依托泊苷以及它们的衍生物等。

本发明的结合物可以纯化合物形式或适宜的药物组合物进行给药，可采用任何可接受的给药方式或用于类似的用途的试剂进行。因此，采用的给药方式可选择通过口、鼻内、非肠道、局部、透皮或直肠方式，其形式为固体、半固体、冻干粉或液体药剂形式给药，例如，片剂、栓剂、丸剂、软和硬明胶胶囊剂、散剂、溶液剂、混悬剂或气雾剂等，优选采用适用于精确剂量的简单给药的单元剂量形式。组合物可包含常规药用载体或赋形剂和作为活性成分(一种或多种)的本发明的结合物，此外，还可包含其它药剂、载体、辅剂等。

通常，根据所需给药方式，药学上可接受的组合物将包含约 1 至约 99 重量%的本发明结合物、以及 99 至 1 重量%的适宜的药用赋形剂。优选组合物包含约 5 至 75 重量%的本发明结合物，其余为适宜的药用赋形剂。

可采用液体形式给药的药物组合物例如可通过溶解、分散等手段将本发明的结合物(约 0.5 至约 20%)和选择性存在的药用辅剂溶解、分散于载体中，载体的实例为水、盐水、含水葡萄糖、甘油、乙醇等，从而形成溶液剂或混悬剂。

如果需要的话，本发明的药物组合物还可包含少量的辅助物质，如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂、抗氧化剂等，例如：柠檬酸、脱水山梨醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯、丁基化羟基甲苯等。

该类剂型的实际制备方法是本领域的技术人员公知的或者显而易见的，例如可参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990)。无论如何，按照本发明的技术，所使用的组合物将含有治疗有效量的本发明结合物，以用于治疗相应的疾病。

实施例

下面结合实例描述本发明的结合物及其制备方法，它不限制本发明，本发明的范围由权利要求限定。

实施例 1

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽 (1) 的制备

其合成方法见图 1 所示。10 克甲氧基聚乙二醇（分子量为 5000）和 2 克 N, N'-二琥珀酰亚胺基碳酸酯溶于 100 毫升乙腈中，再加入 0.5 毫升无水吡啶。反应混合物在氮气保护下室温搅拌过夜。多余溶剂通过旋转蒸发除去，产物真空干燥。固体产物加入 20 毫升无水二氯甲烷中，不溶物通过过滤除去，有机相用醋酸钠缓冲溶液（0.1M, pH 5.5）洗涤一次。再用无水硫酸钠干燥，浓缩。产物用乙醚转移，过滤真空干燥。产率：9.0 克（90%）。NMR (DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 4.45 (t, 2 个氢), 2.82 (s, 4 个氢)。

0.6 克谷氨酸二肽 (Glu-Glu) 溶于 50 毫升磷酸盐缓冲溶液 (0.1M, pH 7.4)，在溶液中添加 4 克上步反应制备的甲氧基聚乙二醇琥珀酰亚胺基碳酸酯（分子量为 5000）。溶液室温下搅拌 6 小时，用二氯甲烷萃取 3 次，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，减压旋转蒸发除去溶剂，残余物用 100 毫升异丙醇，过滤，产物真空干燥。产物可通过离子交换色谱纯化。产率：3.6 克（90%）。NMR (DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 4.41 (t, 2 个氢), 2.32 (t, 4 个氢)。

实施例 2

聚乙二醇二谷氨酸寡肽 (2) 的制备

其合成方法见图 1 所示。30 克聚乙二醇 (分子量为 35,000) 和 2 克 N, N'-二琥珀酰亚胺基碳酸酯溶于 200 毫升乙腈中, 再加入 0.5 毫升无水吡啶。反应混合物在氮气保护下室温搅拌过夜。多余溶剂通过旋转蒸发除去, 产物真空干燥。固体产物加入 50 毫升无水二氯甲烷中, 不溶物通过过滤除去, 有机相用醋酸钠缓冲溶液 (0.1M, pH 5.5) 洗涤一次。再用无水硫酸钠干燥, 浓缩。产物用乙醚转移, 过滤真空干燥。产率: 27.2 克 (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 4.45 (t, 4 个氢), 2.82 (s, 8 个氢)。

0.1 克谷氨酸二肽 (Glu-Glu) 溶于 20 毫升二甲基甲酰胺, 在溶液中添加 10 克上步反应制备的聚乙二醇二琥珀酰亚胺基碳酸酯 (分子量为 35000)。溶液室温下搅拌 6 小时, 过滤除去浑浊物。残余物用 100 毫升异丙醇沉淀, 过滤, 产物真空干燥。产物可通过离子交换色谱纯化。产率: 4.2 克 (40%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 4.41 (t, 4 个氢), 2.37 (s, 4 个氢), 2.32 (t, 4 个氢)。

实施例 3

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽与紫杉醇的结合物 (3) 的制备

其合成方法见图 2 所示。1.25 克由实施例 1 制得的甲氧基聚乙二醇二谷氨酸二肽、0.7 克紫杉醇、0.1 克 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于 15 毫升无水二氯甲烷中, 再添加 0.2 克二环己基碳二亚胺 (DCC)。溶液在氮气保护下, 室温过夜搅拌反应。多余溶剂旋转蒸发除去, 残余物添加 8 毫升 1, 4-二氧六环溶解。过滤除去沉淀, 溶液浓缩, 残余物添加 30 毫升异丙醇, 过滤, 产物真空干燥。产率: 1.6 克 (80%)。熔点: 59-62°C。

实施例 4

聚乙二醇二谷氨酸寡肽与紫杉醇的结合物 (4) 的制备

4.0 克由实施例 2 制得的聚乙二醇二谷氨酸二肽、0.4 克紫杉醇、0.08 克 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP) 溶于 20 毫升无水二氯甲烷中, 再添加 0.15 克二环己基碳二亚胺 (DCC)。溶液在氮气保护下, 室温过夜搅拌反应。多余溶剂旋转蒸发除去, 残余物添加 10 毫升 1, 4-二氧六环溶解。过滤除去沉淀, 溶液浓缩, 残余物添加 50 毫升异丙醇, 过滤, 产物真空干燥。产率: 3.7 克 (85%)。熔点: 61—64℃。

实施例 5

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽和喜树碱结合物 (5) 的制备

其合成方法见图 3 所示。0.7 克喜树碱 (Camptothecin) 和 0.5 克 N-叔丁氧羰基甘氨酸 (BOC-gly), 溶解在 10 毫升无水二氯甲烷中, 加入 0.62 克二环己基碳二亚胺 (DCC) 和 0.36 克 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP), 室温下搅拌过夜。过滤除去反应产生的固体, 减压浓缩溶液, 加入 50 毫升乙醚。过滤收集沉淀真空干燥。

0.5 克喜树碱 N-叔丁氧羰基甘氨酸酯 (由上步制得) 溶解在 10 毫升氯仿中, 添加 10 毫升三氟乙酸, 室温下搅拌 5 小时。减压浓缩溶液, 加入 50 毫升乙醚。过滤收集沉淀真空干燥。

2.5 克由实施例 1 制得的甲氧基聚乙二醇谷氨酸二肽、0.6 克取代喜树碱 (由上一步制备)、0.2 克的 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP) 溶于 30 毫升无水二氯甲烷中, 再添加 0.4 克二环己基碳二亚胺 (DCC)。溶液在氮气保护下, 室温过夜搅拌反应。多余溶剂旋转蒸发除去, 残余物添加 15 毫升 1, 4-二氧六环溶解。过滤除去沉淀, 溶液浓缩, 残余物添加 50 毫升异丙醇, 过滤, 产物真空干燥。产物可通过离子交换色谱纯化。产率: 2.5 克 (80%)。熔点: 60—63℃。

实施例 6

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽和华蟾酥毒基 (Cinobufagin)

结合物 (6) 的制备

其合成方法见图 2 所示。1 克甲氧基聚乙二醇谷氨酸二肽 (由例 1 制得), 溶解在 10 毫升二氯甲烷中。添加 60 毫克华蟾酥毒基, 32 毫克 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 和 40 毫克二环己基碳二亚胺 (DCC)。溶液在氮气保护下, 室温过夜搅拌反应。多余溶剂旋转蒸发除去, 残余物添加 20 毫升 1, 4-二氧六环溶解。过滤除去沉淀, 溶液浓缩, 残余物添加 100 毫升异丙醇, 过滤, 产物真空干燥。产率: 0.8 克 (60%)。熔点: 58—80°C。

实施例 7

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽和甘草次酸 (Glycyrrhetic Acid)

结合物 (7) 的制备

其合成方法见图 3 所示。1 克甲氧基聚乙二醇谷氨酸二肽 (例 1 中制得的), 溶解在 10 毫升二氯甲烷中, 溶液中滴加 0.2 毫升二硫酰氯, 溶液搅拌 2 小时。减压蒸馏除去溶剂和低沸点杂质。再加入含 70 毫克甘草次酸的二氯甲烷溶液 10 毫升, 搅拌溶解。再添加 60 毫克的 4-二甲氨基吡啶 (DMAP)。此溶液在室温下氮气保护搅拌 12 小时, 真空浓缩溶剂, 剩余物加入 20 毫升异丙醇。过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干, 真空干燥。产物可通过离子交换色谱纯化。产率: 0.8 克 (60%)。熔点: 60—62°C。

实施例 8

甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽和东莨菪内酯 (Scopoletin)

结合物 (8) 的制备

其合成方法见图 2 所示。5 克甲氧基聚乙二醇谷氨酸二肽 (例 1 中制得的) 溶在 50 毫升二氯甲烷中, 再加入 0.70 克的东莨菪内酯, 0.1 克

的 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 和 0.82 克的二环己基碳二亚胺 (DCC)。此溶液在室温下氮气保护搅拌 12 小时, 真空浓缩溶剂, 剩余物加入 20 毫升 1, 4-二氧六环中, 过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干。溶液减压蒸除, 残余物添加 100 毫升异丙醇。过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干。合并沉淀物, 真空干燥。产率: 4 克 (80%)。熔点: 58—61℃。

实施例 9

本实施例说明代表性非胃肠道给药的药物组合物的制备过程, 所述组合物包含本发明的结合物。

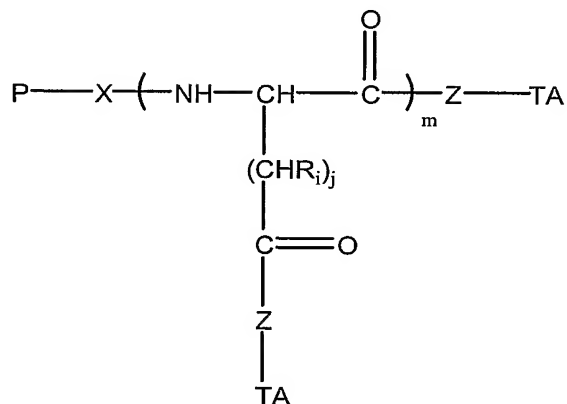
成分

实施例 3 的结合物	2 克
0.9% 盐水溶液	至 100 毫升

将实施例 3 的结合物溶解于 0.9% 盐水溶液, 得到 100 毫升的静脉注射用溶液, 将其通过 0.2 μ m 的膜过滤材料过滤, 在无菌条件下包装。

权 利 要 求

1、以下式的亲水性聚合物—多羧基寡肽与药物分子的结合物：



其中：

P 是水溶性聚合物；

m 是 2—12 中的一个整数；

j 为 1—6 的整数；

R_i 为选自于以下组中的基团：H、C₁₋₁₂ 烷基、取代芳基、芳烷基、杂烷基、和取代烷基；

X 是连接基团；

Z 是连接基团：O 或 NH；

TA 为药物分子。

2、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述水溶性聚合物选自于聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉以及它们的共聚物。

3、如权利要求 2 所述的结合物，其中，所述水溶性聚合物是聚乙二醇。

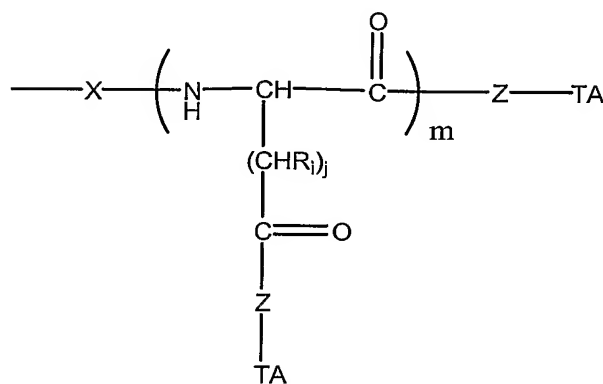
4、如权利要求 3 所述的结合物，其中，聚乙二醇的分子量为 300～

60,000。

5 如权利要求 1 所述的结合物，其中，连接基团 X 是 $(\text{CH}_2)_i$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ 、或 $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ ，而 i 是 0—10 的整数。

6、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述亲水性聚合物上的游离羟基可用 C_{1-12} 烷氧基、环烷氧基或芳烷氧基取代。

7、如权利要求 1 所述的结合物，其中，所述亲水性聚合物上的游离羟基也可用下式取代：



其中：x、m、j、 R_1 、Z 和 TA 与权利要求 1 中的定义相同。

8、如权利要求 1 所述的结合物，其中，在所述亲水性聚合物上可携带靶向分子以定向转运该结合物。

9、如权利要求 8 所述的结合物，其中，所述靶向分子是抗体。

10、如权利要求 1 所述的结合物，其中，药物部分选自于以下类别中的一种：氨基酸、蛋白质、酶、核苷、糖类、有机酸、甙类、黄酮类、醌类、蒽类、苯丙素酚类、甾体及其甙类、生物碱。

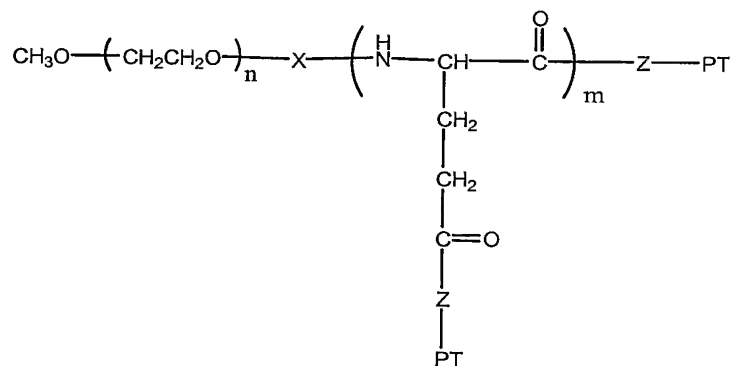
11、如权利要求 10 所述的结合物，其中，药物部分是天然药物活性成分。

12、如权利要求 11 所述的结合物，其中，天然活性成分是华蟾酥毒基、甘草次酸、或东莨菪内酯。

13、如权利要求 10 所述的结合物，其中，所述药物部分是抗肿瘤剂免疫抑制剂。

14、如权利要求 13 所述的结合物，其中，所述抗肿瘤剂免疫抑制剂选自于紫杉醇、喜树碱、羟基喜树碱、依托泊苷以及它们的衍生物。

15、一种甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽与药物分子的结合物，其结构式为：



其中：

n 是 10—1200 的整数；

m 是 2—12 的整数；

X 是选自于以下组中的连接基团： $(\text{CH}_2)_i$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ ，其中 i 是 0—10 的整数；

Z 是连接基团：O 或 NH；

PT 为选自于紫杉醇、喜树碱、华蟾酥毒基、甘草次酸、东莨菪内酯

及其衍生物的药物。

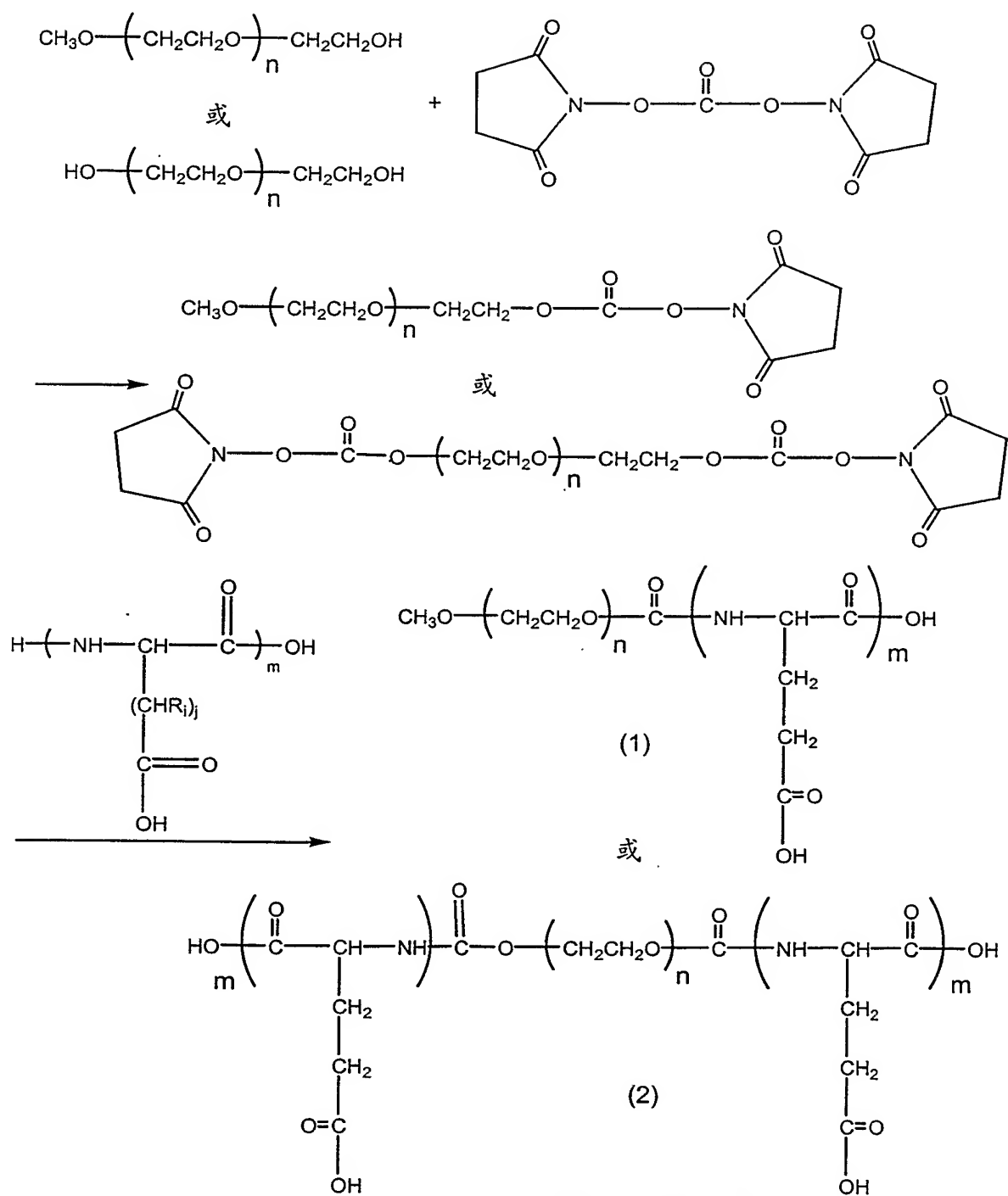
16、药物组合物，其包含如任一前述权利要求所述的结合物以及药学上可接受的载体或赋形剂。

17、如权利要求 16 所述的组合物，其还可包含其他的治疗活性成分。

18、如权利要求 16 所述的组合物，其为片剂、栓剂、丸剂、软和硬明胶胶囊剂、散剂、溶液剂、混悬剂或气雾剂的剂型。

19、如权利要求 1—15 之一所述的结合物在制备药物中的应用。

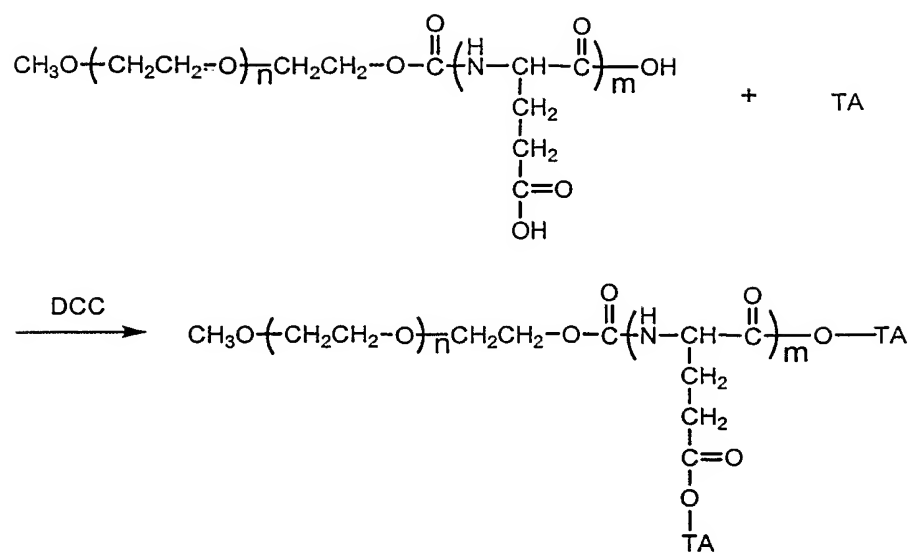
1/3



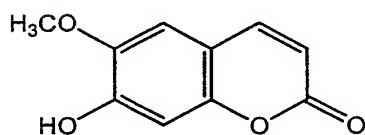
甲氧基聚乙二醇谷氨酸寡肽

图 1

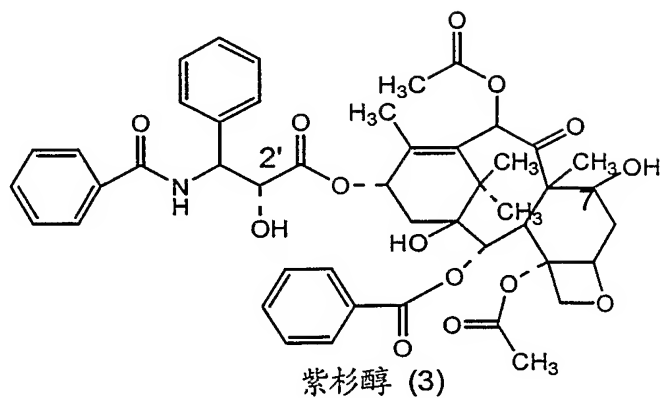
2/3



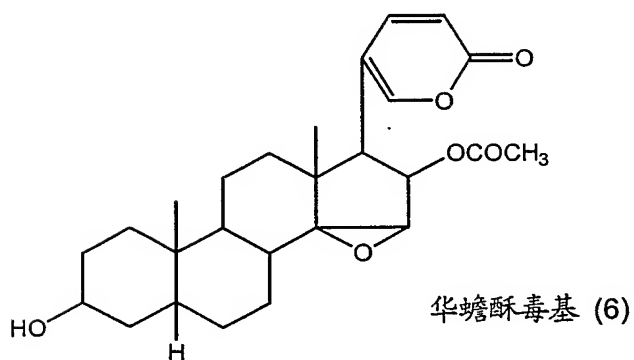
TA:



东茛菪内酯 (8)



紫杉醇 (3)



华蟾酥毒基 (6)

图 2

3/3

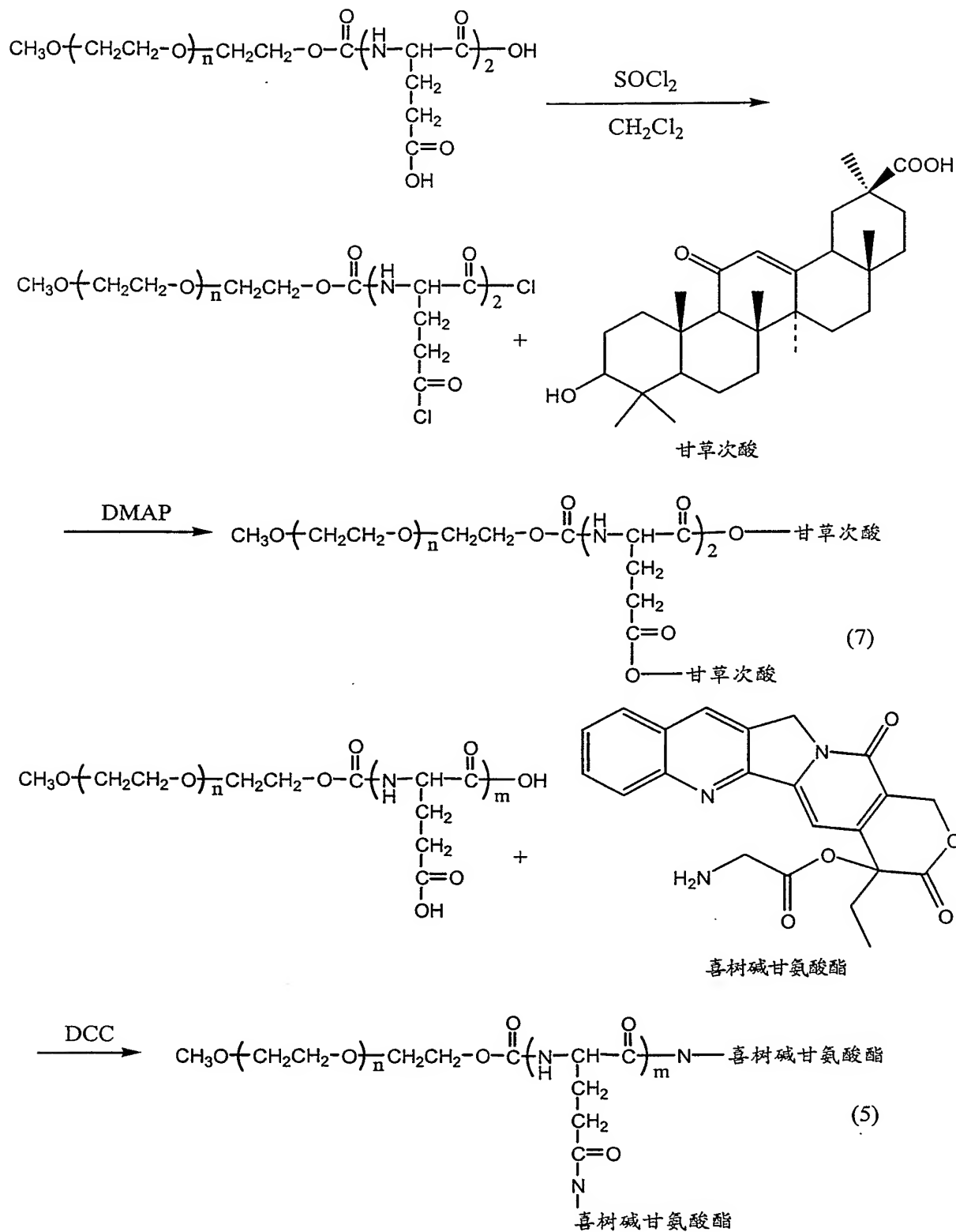


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN03/00164

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7 C08G69/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC C08G,C08H,C08B,C08F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE3730797 A(SIEGEL R) 23.Mar.1989(23.03.1989), Page2—3	1-19
A	WO9701631 A1 (DAIICHI PURE CHEM CO LTD) 16.Jan.1997(16.01.1997), Page2—11	1-19
A	JP60096605 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD) 30.May.1985(30.05.1985), Page2—3	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 27.Mar.,2002	Date of mailing of the international search report 12 JUN 2003 (12.06.03)
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer Li Li Telephone No. 86-10-62093079



International application No.
PCT/CN03/00164

Form PCT/ISA /210 (patent family annex) (July 1998)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN03/00164

A. 主题的分类

IPC7 C08G69/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域 IPC C08G,C08H,C08B,C08F

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	DE3730797 A(SIEGEL R) 23.3 月 1989(23.03.1989), 说明书第 2—3 页	1-19
A	WO9701631 A1 (DAIICHI PURE CHEM CO LTD) 16.1 月 1997(16.01.1997), 说明书第 2—11 页	1-19
A	JP60096605 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD) 30.5 月 1985(30.05.1985), 说明书第 2—3 页	1-19

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

27.3 月 2003(27.3.2003)

国际检索报告邮寄日期

12. 6 月 2003 (12. 06. 03)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

李丽

电话号码: 86-10-62093079



国际申请号
PCT/CN03/00164

[illegible]